

**KUALITAS SEMEN CAIR SAPI PERANAKAN
ONGOLE PADA BERBAGAI FORMULASI
PENGECER DASAR AIR KELAPA HIJAU
MUDA SELAMA PENDINGINAN 2- 5 °C**

SKRIPSI

Oleh :

Janis Wicahyo

NIM. 165050109111012



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**KUALITAS SEMEN CAIR SAPI PERANAKAN
ONGOLE PADA BERBAGAI FORMULASI
PENGECER DASAR AIR KELAPA HIJAU
MUDA SELAMA PENDINGINAN 2- 5 °C**

SKRIPSI

Oleh :
Janis Wicahyo
NIM. 165050109111012

Skripsi Ini Merupakan Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Pada Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**KUALITAS SEMEN CAIR SAPI PERANAKAN
ONGOLE PADA BERBAGAI FORMULASI
PENGECER DASAR AIR KELAPA HIJAU
MUDA SELAMA PENDINGINAN 2- 5 °C**

SKRIPSI

Oleh :

Janis Wicahyo

NIM. 165050109111012



RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Lampung pada 23 Januari 1995 dan merupakan anak bungsu dari dua bersaudara, putra dari Bapak Tukimin dan Ibu Sutami. Penulis menyelesaikan pendidikan di SDN 1 Setia Bhakti pada 2007, Mts Fantri Bhakti pada tahun 2010, SMAN 1 Seputih Banyak pada tahun 2013, melanjutkan kuliah di Program Keahlian Teknologi dan Manajemen Ternak Program Diploma Institut Pertanian Bogor pada tahun 2013-2016. Penulis melanjutkan kuliah di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya melalui Seleksi Alih Program (SAP) pada tahun 2016. Penulis menyelesaikan skripsi dengan judul "Kualitas Semen Cair Sapi Peranakan Ongole Pada Berbagai Formulasi Pengencer Dasar Air Kelapa Hijau Muda Selama Pendinginan 2-5°C.



**QUALITY OF LIQUID SEMEN ONGOLE
CROSSBREED BULLS ON VARIOUS FORMULATION
OF DILUENTS BASED ON YOUNG GREEN COCONUT
WATER DURING COOLING AT 2-5 °C**

Janis Wicahyo ¹⁾, Trinil Susilawati²⁾

¹⁾Student of Animal Science Brawijaya Univesity

²⁾Lecture of Animal Science Brawijaya University

Email: trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect of differences in diluent formulations based on young green coconut water during 2-5°C cooling. This research was conducted at the Loka Cattle Research Station in April 2018 until May 2018. The bulls approached the angler cattle and false mounting wae carried out three times to increase bull libido. The research used was the semen of Ongole Crossbreed in the Grati Pasuruan Cattle Research Station aged 6 and 8 years. Semen collected a week was carried out twice a week using artificial vaginal methods. There were 4 treatments and 10 replications. The research treatment were P1 (80% CEP-3 + 20% egg yolk) as control, P2 (80% green young coconut water + 20% egg yolk), P3 (P2 + 1% fructose + 0.4% egg white) and P4 (P2 + 2% fructose + 0.4% egg white). Statistically, the best viability has a presentation of more than 70%. Abnormalities after cooling at a temperature of 2-5 °C Indicate abnormalities below 20% on day 4. The quality of spermatozoa in P2 diluents was able to maintain spermatozoa until 6 days.

Keywords: Liquid Semen, Ongole Crossbread, Diluents, Young green Coconut Water.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia yang diberikan, serta sholawat dan salam pada Rasulullah Muhammad SAW sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Kualitas Semen Cair Sapi Peranakan Ongole Pada Berbagai Bahan Pengencer Dasar Air Kelapa Hijau Muda Selama Pendinginan 2-5 °C”. Merupakan bagian dari penelitian PUPTN dengan judul teknologi semen cair pada sapi lokal. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Peternakan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Bersama ini penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua Bapak Tukimin dan Ibu Sutami, atas kasih sayang doa serta dukungannya.
2. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah memberikan izin dan sarana prasarana dalam pelaksanaan penelitian.
3. Ibu Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua, dan Bapak Dr. Ir. Imam Tohari, MP selaku sekretaris Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah banyak membina untuk kelancaran proses studi.
4. Dr. Agus Susilo, S.Pt, MP., selaku Ketua Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah banyak membina untuk kelancaran proses studi.
5. Ir. Nur Cholis, M.S., selaku Ketua Minat Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang

- memberikan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian dan membantu kelancaran dalam penelitian.
6. Prof. Dr. Ir. Trinil Susilawati, MS., selaku dosen pembimbing utama atas segala saran, motivasi, koreksi dan waktu yang telah diluangkan selama proses bimbingan.
 7. Heni Setyo Prayogi, S.Pt., M.Sc selaku dosen penguji pertama dan Artharini Irsyammawati, S.Pt., MP selaku dosen penguji ke dua atas segala saran, motivasi, koreksi dan waktu yang telah diluangkan selama proses bimbingan.
 8. Ucapan terimakasih kepada KEMSKRISTEK DIKTI yang memberi dana penelitian melalui skema penelitian PUPT dengan judul Optimalisasi Semen Cair.
 9. Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan yang telah menyediakan materi dan tempat penelitian.
 10. Anggota Tim penelitian (Jois Harsa, Muhammad Amran Arfan, Willi Syaputra dan Dedi Muhammad) yang telah bekerja sama dalam menyelesaikan penelitian.
 11. Ucapan terimakasih kepada tim penelitian BBIB SINGOSARI (Agus Dwi Cahyorini, Singgih Priyanto, Mayova dan Nisa'us Sholikah) yang telah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian.

Penulis berharap kritik dan saran untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini dan semoga hasil penelitian dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Malang, September 2018

Penulis

KUALITAS SEMEN CAIR SAPI PERANAKAN ONGOLE PADA BERBAGAI BAHAN PENGENCER DASAR AIR KELAPA HIJAU MUDA SELAMA PENDINGINAN 2- 5°C

Janis Wicahyo¹⁾ dan Trinil Susilawati²⁾

¹⁾Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²⁾Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

Email : janis.wicahya23@gmail.com

RINGKASAN

Kondisi spermatozoa yang mudah mengalami kerusakan pada saat perlakuan maupun penyimpanan serta membutuhkan pengencer yang dapat mempertahankan kualitas selama penyimpanan. Berbagai pengencer perlu diuji coba untuk menentukan pengencer yang mampu mempertahankan kualitas semen cair pada suhu penyimpanan 2-5°C. Pengencer *Cauda Epididymal Plasma 3* (CEP-3) adalah salah bahan pengencer yang menyerupai cairan *cauda epididimis*. Kuning telur merupakan bahan pengencer yang berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran spermatozoa untuk mencegah terjadinya *cold shock* atau cekaman selama pendinginan pada suhu dingin 2-5°C.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan formulasi pengencer berbasis dasar air kelapa hijau muda pada semen cair selama simpan dingin 2-5°C. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dan referensi dalam membuat bahan pengencer alternatif yang murah, mudah didapat dan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan dingin.

Penelitian ini dilaksanakan di Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan pada tanggal 15 April 2018 Sampai 05 Mei 2018. Materi penelitian yang digunakan adalah semen dari dua ekor sapi Peranakan Ongole dengan kode yaitu 12.04.06 bobot badan yaitu 532,5 kg dan 2010/14 bobot badan yaitu 647 kg serta umur sapi berturut yaitu 6 dan 8 tahun yang ada di Loka Penelitian Sapi Potong Grati. Penampungan dilakukan setiap seminggu dua kali menggunakan metode vagina buatan. Semen yang digunakan untuk pengenceran harus mempunyai motilitas $\geq 70\%$ dan motilitas masa 2+. Kuning telur yang digunakan berasal dari ayam ras petelur dengan umur telur < 3 hari. Bahan tambahan pengencer untuk menggantikan BSA yaitu albumin yang diambil putih telur yang encer dan bahan pengencer air kelapa menggunakan air kelapa hijau muda yang berumur 5-8 bulan terdapat air kelapa dan daging kelapa yang belum keras.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen laboratorium yang terdiri dari 4 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan penelitian yaitu P1 (80% CEP-3 + 20% kuning telur) sebagai kontrol, P2 (80% air kelapa hijau muda + 20% kuning telur), P3 (P2 + 0,4% putih telur + 1% fruktosa) dan P4 (P2 + 0,4% putih telur 2% fruktosa). Variabel yang diamati adalah motilitas individu (%), viabilitas (%), abnormalitas (%), konsentrasi (jt/ml) dan total spermatozoa motil (jt/ml). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Pearson's Chi Square* pada hari terdekat dengan motilitas 40% dan total spermatozoa motil 40 jt/ml dan Uji deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan uji *Pearson's Chi Square*, persentase motilitas individu spermatozoa dengan nilai harapan 40%, pada perlakuan P1 sebagai control yaitu selama penyimpanan hari ke-8. Bahan pengencer kelapa hijau muda yaitu pada perlakuan P2, P3 dan

P4 yaitu selama penyimpanan hari ke-6 selama simpan dingin tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P>0.05$). Rataan motilitas spermatozoa selama pengamatan bahwa pada perlakuan P1 selama penyimpanan hari ke-8 didapatkan nilai motilitas sebesar $41,50\pm 7,47\%$. Bahan pengencer air kelapa hijau muda didapatkan motilitas pada hari ke-6 masih diatas 40%, perlakuan P2 didapatkan nilai motilitas sebesar $37,00\pm 5,37\%$, perlakuan P3 didapatkan nilai motilitas sebesar $39,00\pm 3,94\%$ dan perlakuan P4 didapatkan nilai rata-ran motilitas $37,50\pm 5,40\%$. Bahan pengencer dari keempat perlakuan masih menunjukkan hasil yang baik yaitu nilai motilitas masih diatas 40%. Persentase viabilitas tertinggi selama penyimpanan menunjukkan bahwa perlakuan P1: $82,27\pm 5,22\%$, P2: $76,41\pm 6,89\%$, P3: $81,39\pm 5,03\%$ dan P4: $79,06\pm 5,05\%$. Persentase abnormalitas dari semua perlakuan menunjukkan nilai abnormalitas masih dibawah 20%.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan formulasi pengenceran air kelapa hijau muda dapat mempertahankan kualitas semen cair selama penyimpanan sampai hari ke-6 dan bahan pengencer terbaik pada air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P2 dengan penambahan 0,4% putih telur dan 1% fruktosa mempunyai nilai motilitas sebesar $39,00\pm 3,94\%$ dan diikuti oleh pengencer P4 dan P2 dengan nilai motilitas berturut-turut yaitu sebesar $37,50\pm 5,40\%$ dan $37,00\pm 5,37\%$ dan $37,00\pm 5,37\%$. Bahan pengencer yang baik untuk diaplikasikan IB yaitu menggunakan bahan pengencer CEP-3+20% kuning telur yaitu 8 hari selama simpan dingin dan bahan pengencer terbaik air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P2 dan dapat diaplikasikan untuk IB sampai 6 hari selama simpan dingin pada suhu $2-5^{\circ}\text{C}$.



DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.5. Kerangka Konsep Penelitian	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Reproduksi Sapi Peranakan Ongole (PO)	7
2.2. Faktor – Faktor Yang Mempengaruhi IB	8
2.3. Penyimpanan Semen	8
2.4. Pengenceran Semen	9
2.5. Pengencer <i>Cauda Epididymal Plasma</i> (CEP) Dengan Kuning Telur	9
2.6. Pengencer Bahan Air Kelapa	11
 BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	13
3.2. Materi Penelitian	13
3.3. Metode Penelitian	13
3.3.1. Pemisahan Albumin Putih Telur	14

3.3.2. Pembuatan Pengencer CEP-3 dengan Penambahan Putih Telur	14
3.3.3. Pembuatan Pengencer Air Kelapa Hijau Muda	16
3.4. Variabel Penelitian	17
3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	20
3.6. Batasan Istilah	21
3.7. Kerangka Operasional	22

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pemeriksaan Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole.	23
4.2. Persentase Motilitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C	24
4.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C	28
4.4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Suhu 2-5°C	32
4.5. Total Spermatozoa Motil.....	35

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

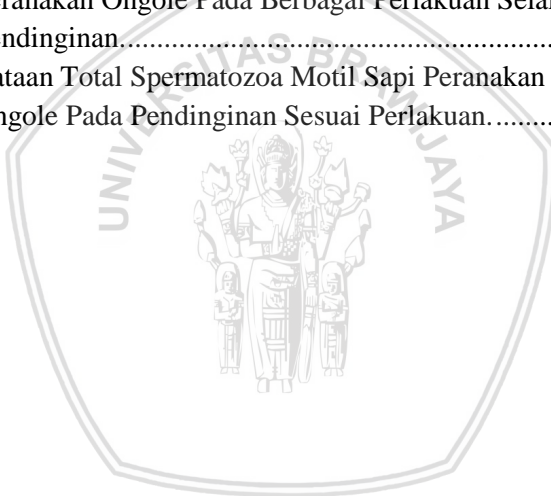
5.1. Kesimpulan.....	39
5.2. Saran.....	39

DAFTAR PUSTAKA	41
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	49
-----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan Penelitian.....	14
2. Komposisi Bahan Pengencer CEP-3.....	15
3. Komposisi Bahan Pengencer Air Kelapa Hijau Muda..	16
4. Rataan Persentase Viabilitas Sapi Peranakan Ongole Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.....	31
5. Rataan Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Peranakan Ongole Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.....	34
6. Rataan Total Spermatozoa Motil Sapi Peranakan Ongole Pada Pendinginan Sesuai Perlakuan.....	35





DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Fikir Penelitian	6
2. Kerangka Operasional Penelitian	22
3. Persentase Motilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.....	25
4. Perbedaan Spermatozoa Hidup Dan Mati Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.....	29
5. Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.....	30
6. Perbedaan Spermatozoa Abnormal (A) dan Spermatozoa Normal (B) Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.....	33
7. Pola Peningkatan Abnormalitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.....	33
8. Proses Pembuatan Pengencer CEP-3 dengan Kuning Telur.....	67
9. Prosedur Pengencer Perlakuan 2.....	68
10. Prosedur Pengencer Perlakuan 3.....	69
11. Prosedur Pengencer Perlakuan 4.....	70



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Persentase Motilitas Spermatozoa (%)	49
2. Data Persentase Viabilitas Spermatozoa (%)	51
3. Data Persentase Abnormalitas Spermatozoa (%).....	53
4. Data Persentase Total Spermatozoa Motil (jt/ml).....	55
5. Analisis Statistik Motilitas Individu pada Berbagai Bahan Pengenceran dengan <i>Chi Square</i>	57
6. Analisis Statistik Total Spermatozoa Motil Individu pada Berbagai Bahan Pengenceran dengan Chi Square	61
7. Estimasi Kebutuhan Albumin putih telur, Semen dan Pengencer	65
8. Prosedur Pembuatan Pengencer	67



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sapi Peranakan Ongole (PO) merupakan bangsa sapi potong hasil persilangan sapi lokal dari India dan termasuk golongan sapi zebu (Susilawati, 2017). Bangsa sapi Peranakan Ongole ini tersebar luas di Indonesia dan populasi terbesar berada di pulau Jawa terutama di Jawa Timur. Bangsa sapi ini terbentuk sekitar tahun 1930 melalui sistem persilangan dengan metode *grading up* antara sapi Jawa dengan sapi Sumba Ongole (SO). Keunggulan sapi Peranakan Ongole yaitu daya adaptasi iklim tropis yang tinggi, tahan terhadap panas, tahan terhadap gigitan nyamuk dan caplak, toleran terhadap pakan berserat kasar tinggi (Astuti, 2004). Upaya yang dapat dilakukan untuk mempertahankan dan meningkatkan populasi sapi Peranakan Ongole yaitu dengan meningkatkan efisiensi reproduksi dengan menerapkan Inseminasi Buatan (IB).

Inseminasi Buatan merupakan salah satu teknologi tepat guna yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan produktivitas dengan memanfaatkan pejantan unggul agar dapat mengawini lebih banyak dan dapat meningkatkan mutu genetik ternak. Secara umum teknik IB terdiri dari dua metode yaitu metode inseminasi *vaginaskop* atau *spekulum* dan metode *rectovaginal* (Susilawati, 2011). Semen yang dapat digunakan untuk IB yaitu semen cair dan semen beku. Semen cair merupakan alternatif yang dapat digunakan oleh semua kalangan masyarakat karena pembuatan semen cair mudah untuk dilakukan, tidak memerlukan nitrogen cair, murah dan dapat disimpan pada suhu 2-5°C. Keberhasilan IB

menggunakan semen beku lebih rendah dibandingkan dengan semen cair. Semen beku mempunyai kekurangan yaitu penurunan fertilitas selama proses pembekuan dan proses *thawing* yang kurang tepat (Susilawati dkk, 2016). Menurut Sades dkk (2016) bahwa dalam usaha mempertahankan fertilitas spermatozoa dapat menambahkan pengencer lain untuk menjamin kebutuhan fisik dan kimia bagi spermatozoa selama penyimpanan pada kondisi dan suhu tertentu sehingga dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Menurut Hoesni (2016) menyatakan bahwa dalam usaha mempertahankan kualitas spermatozoa pada bahan pengencer harus menyediakan zat-zat makanan, tidak bersifat racun dan sebagai penyangga (*buffer*), mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Bahan pengencer harus mempunyai sumber nutrisi bagi spermatozoa, tidak bersifat racun dan melindungi spermatozoa dari *cold shock* saat proses pembuatan semen cair.

Cauda Epididymal Plasma 3 (CEP-3) merupakan pengembangan dari pengencer CEP-2 menggantikan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan putih telur. Pengencer CEP-2 memiliki komposisi kimia seperti NaCl, KCl, $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, NaHCO_3 , NaH_2PO_4 , KH_2PO_4 , fruktosa, sorbitol, *bovine serum albumin* (BSA), Tris, *gentamisin*, *penisilin*, *streptomycin* dan asam sitrat (Ducha dkk, 2013). Costa *et al.*, (2016) melaporkan bahawa semen cair sapi PO pada penyimpanan dingin dengan pengenceran CEP-2 + 10% kuning telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-7 dan CEP-2+ 10% tanpa BSA mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-6. Air

kelapa merupakan bahan pengencer alternatif yang mudah didapatkan. Air kelapa mengandung glukosa dan fruktosa sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi dan diharapkan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan (Yohana dkk, 2014). Kuning telur merupakan krioprotektan ekstraseluler mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran spermatozoa untuk mencegah terjadinya *cold shock* selama pendinginan pada suhu 5°C (Susilawati, dkk 2013). Berdasarkan uraian diatas, perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai kualitas semen cair pada sapi Peranakan Ongole pada berbagai formulasi pengencer dasar air kelapa hijau muda selama pendinginan 2-5 °C.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh formulasi pengencer berbasis air kelapa sapi Peranakan Ongole pada berbagai bahan pengencer selama simpan dingin pada suhu 2-5°C.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan formulasi pengencer berbasis air kelapa hijau muda dibandingkan CEP-3 pada semen cair sapi Peranakan Ongole selama simpan dingin pada suhu 2-5°C.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi alternatif dengan menggunakan berbagai bahan pengencer yang murah mudah dan efektif dalam mempertahankan kualitas spermatozoa.

1.5 Kerangka Konsep Penelitian

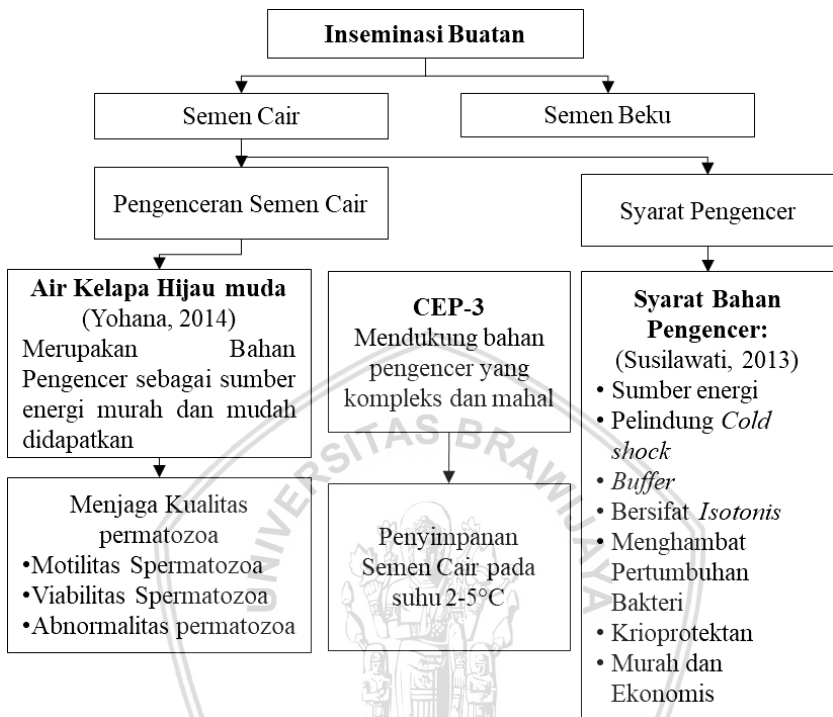
Sapi Peranakan Ongole merupakan sapi potong bangsa *Bos indicus* yang mempunyai produktivitas tinggi terutama di daerah tropis. Perkembangbiakan sapi Peranakan Ongole sejauh ini dilakukan IB menggunakan semen beku akan tetapi semen beku mempunyai fertilitas yang rendah akibat kerusakan membran spermatozoa pada saat pembekuan dan *thawing*.

Pengencer *Cauda Epididymal Plasma 3* (CEP-3) merupakan pengembangan dari pengencer CEP-2 tanpa penambahan BSA namun digantikan dengan putih telur pengencer *Cauda Epididymal Plasma* (CEP) adalah salah satu jenis pengencer yang bisa disimpan pada suhu dingin dan dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-8 (Ducha dkk, 2013). *Cauda Epididymal Plasma 2* mengandung sumber energi berupa fruktosa, beberapa mineral seperti (Na^+ , Ca^{2+} , K^+), pH serta osmolaritasnya sama pada keadaan plasma kauda epididymis (Verbeckmoes, *et al* 2004). Kuning telur merupakan bahan pengencer yang berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler serta mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran spermatozoa untuk mencegah terjadinya *cold shock* selama pendinginan pada suhu $2-5^{\circ}\text{C}$. Krioprotektan ekstraseluler mempunyai ukuran molekul yang besar dan dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Wahjuningsih, 2013). Menurut Wahana dkk (2014) menyatakan bahwa BSA yang ditambahkan dalam bahan pengencer yaitu berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang mempunyai peranan penting dalam melindungi integritas membran spermatozoa serta mengikat membran plasma dan gugus fosfolipid yang berikatan dengan

protein dan glikoprotein yang dapat mengakibatkan partikel-partikel intra membran terkumpul akibat pengaruh *cold shock* selama penyimpanan dingin.

Putih telur dapat digunakan sebagai albumin alternatif untuk menggantikan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan harga yang terjangkau, mudah didapatkan dan efektif dalam mempertahankan kualitas spermatozoa (Sianturi dkk., 2004). Menurut Sholikhah dkk (2016) menyatakan bahwa dalam penggantian BSA dengan putih telur sebesar 0,4% mampu mempertahankan kualitas spermatozoa sapi PO sampai 6 hari penyimpanan dingin. Putih telur mengandung 18 asam amino diantaranya adalah *isoleusin, leusin, lysin, methionin, cystine, phenylalanine, tryosin, threonine, tryptophan, valine, alanine, arginin, asam aspartik, glysin, histidin, prolin, dan serin* (Muchtadi dkk., 2010).

Air kelapa merupakan bahan pengencer lokal yang mudah didapatkan dan tersedia dilingkungan. Air kelapa juga mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana seperti fruktosa. Menurut Yohana (2014) bahwa penggunaan air kelapa yang digunakan untuk bahan pengencer yaitu sebanyak 100 ml, kuning telur dan ditambahkan bahan lain seperti *penisilin, streptomycin* dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-3 dengan motilitas sebesar $40,42 \pm 1,88\%$. Bahan pengenceran semen cair menggunakan air kelapa hijau muda pada kambing mampu mempertahankan motilitas spermatozoa selama dua hari dengan motilitas $48,33 \pm 20,17\%$ (Audia dkk, 2017).



Gambar 1. Kerangka Fikir Penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Reproduksi Sapi Peranakan Ongole (PO)

Parameter yang digunakan untuk menilai penampilan reproduksi adalah, *Service per Conception* (S/C), *Days Open* (DO) dan *Calving Interval* (CI) (Atabany dkk., 2011). Menurut Ihsan dan Wahjuningsih (2011) menyatakan bahwa penampilan reproduksi ternak dapat diukur berdasarkan *indeks fertilitas* (IF) yang dihitung berdasarkan tiga variabel yaitu *Conception Rate* (CR), *Service per Conception* (S/C) dan *Days Open* (DO). Sapi Peranakan Ongole dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang buruk. Ketidak efisienan reproduksi sapi Peranakan Ongole disebabkan oleh manajemen atau pengelolaan reproduksi sapi Peranakan Ongole bukan disebabkan karena fertilitas yang rendah tetapi disebabkan sapi Peranakan Ongole mengalami pubertas pada umur sekitar 8 bulan sehingga mengalami dewasa kelamin pada umur 12 bulan (Susilawati, 2017).

Persentase motilitas spermatozoa pada bangsa sapi Peranakan Ongole diatas 80% dengan rata-rata pergerakan spermatozoa lebih dari 10 μm /detik sedangkan persentase motilitas progresif yang bergerak lebih dari 20 μm /detik pada sapi peranakan ongole adalah dibawah 70% tetapi masih diatas 60% (Sarastina dkk.,2008). Susilawati (2011) menyatakan bahwa kualitas semen sapi PO dapat mengalami penurunan dalam pelaksanaan dilapang karena jarak tempuh yang jauh, *handling* yang jelek, kekurangan nitrogen cair saat perjalanan. Kualitas semen sapi PO sangat dipengaruhi oleh umur ternak. Ternak muda mempunyai kualitas semen yang lebih rendah dari pada ternak dewasa karena organ reproduksi primer dan

sekunder belum berkembang secara optimal (Azzahra, dkk 2016).

2.2. Faktor – Faktor Yang Mempengaruhi IB

Inseminasi Buatan merupakan program yang telah dikenal oleh peternak sebagai teknologi reproduksi ternak yang efektif. Keberhasilan kebuntingan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti mendeposisi semen dalam saluran reproduksi ternak betina kurang tepat (Selk, 2007). Inseminasi buatan merupakan suatu program untuk memperbaiki mutu genetik ternak dengan memanfaatkan bibit unggul secara maksimal untuk peningkatan produktivitas ternak (Waluyo, 2014). Menurut Susilawati (2013) bahwa IB telah terbukti dapat mencegah atau menurunkan penyebaran penyakit yang disebabkan oleh perkawinan alam. Inseminasi buatan menggunakan semen cair mampu meningkatkan fertilitas dan dapat mempertahankan motilitas spermatozoa selama 6 hari (Kusrianty dkk., 2016). Keberhasilan IB menggunakan semen sapi Peranakan Ongole sangat dipengaruhi oleh waktu dan *standing estrus* (Wahyudi, dkk 2014).

2.3. Penyimpanan Semen

Penyimpanan semen cair pada suhu dingin 5°C disimpan selama 2-72 jam, bahwa abnormalitas spermatozoa mengalami fluktuasi namun masih <20% (Effendi, 2016). Semen yang disimpan pada suhu ruang lebih cepat mengalami penurunan motilitas dan viabilitas sehingga terjadi peningkatan kematian spermatozoa karena kerusakan membran spermatozoa (Sholikhah dkk.,2016). Menurut Sades, dkk (2016) bahwa penurunan viabilitas spermatozoa yang disimpan pada suhu dingin disebabkan oleh stress oksidatif

yang dialami spermatozoa sehingga menyebabkan terganggunya proses metabolisme spermatozoa sehingga menyebabkan kematian bagi spermatozoa. Penggunaan pengencer CEP-2 tanpa BSA dan penambahan putih telur sebanyak 0,4% mampu mempertahankan motilitas sampai jam ke-48 selama penyimpanan dingin (Susilawati, dkk., 2016). Penyimpanan semen cair pada suhu dingin merupakan salah satu cara untuk memperpanjang daya hidup spermatozoa dan untuk meminimalisir metabolisme spermatozoa yaitu pada suhu 2-5°C.

2.4. Pengenceran Semen

Pengencer berfungsi sebagai media hidup spermatozoa dan sumber nutrisi. Menurut Firdausi dkk (2014) menyatakan bahwa bahan pengencer harus mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan. Bahan pengencer harus sebagai sumber energi, melindungi dari cekaman dingin (Suharyati dkk., 2011; Ridwan, 2009). Penurunan suhu saat pengenceran, dilakukan secara bertahap bertujuan untuk melindungi spermatozoa dari *cold shock*. Pengaruh dingin yang mendadak menyebabkan kematian pada spermatozoa, sehingga perlu bahan menambahkan bahan lain untuk melindungi spermatozoa dari cekaman dingin seperti fruktosa dan kuning telur (Hardijanto, dkk., 2010).

2.5. Pengencer *Cauda Epididymal Plasma* (CEP) Dengan Kuning Telur

Pengencer *Cauda Epididymal Plasma* (CEP) merupakan bahan pengencer yang menyerupai cairan plasma kauda epididimis. Verberckmoes., *et al* (2004) menyatakan bahwa komposisi bahan yang terdapat dalam pengencer CEP adalah

NaCl, KCl, $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, NaHCO_3 , NaH_2PO_4 , KH_2PO_4 , Fruktosa, Sorbitol, *Bovine Serum Albumin* (BSA), Tris, Gentacimin, dan Asam sitrat, dengan osmolaritas sebesar 3.200 mOsm dan pH 6,6 sehingga mempunyai komposisi ionik yang hampir sama dengan cairan cauda epididimis sapi dengan komposisi ion, pH, osmolaritas. Bahan pengencer yang masih dalam pengembangan yaitu *Cauda Epididymal Plasma* 3 (CEP-3) merupakan pengembangan dari pengencer CEP-2 tetapi tanpa penambahan BSA digantikan dengan 0,4% putih telur.

Kuning telur merupakan komponen penting dalam bahan pengencer yang berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler untuk melindungi spermatozoa saat proses pendinginan. Krioprotektan ekstraseluler mempunyai ukuran molekul yang besar dan dapat melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (Wahjuningsih, 2013). Menurut Wahana dkk (2014) menyatakan bahwa BSA yang ditambahkan kedalam pengencer berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang mempunyai peranan penting dalam melindungi integritas membran spermatozoa serta mengikat membran plasma dan gugus fosfolipid yang berikatan dengan protein dan glikoprotein yang dapat mengakibatkan partikel-partikel intra membran terkumpul akibat pengaruh *cold shock* selama penyimpanan dingin. Putih telur dapat digunakan sebagai albumin alternatif untuk mensubstitusi penggunaan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan harga yang terjangkau, mudah didapatkan dan efektif dalam mempertahankan kualitas spermatozoa (Sianturi dkk., 2004). Menurut Sholikah dkk (2016) menyatakan bahwa penggantian BSA dengan putih telur sebesar 0,4% mampu mempertahankan kualitas semen sapi PO pada suhu 5°C. Putih telur mengandung 18 asam

amino diantaranya adalah *isoleusin*, *leusin*, *lysin*, *methionin*, *cystine*, *phenylalanine*, *tryosin*, *threonine*, *tryptophan*, *valine*, *alanine*, *arginin*, *asam aspartik*, *glysin*, *histidin*, *prolin*, dan *serin* (Muchtadi dkk., 2010).

2.6. Pengencer Bahan Air Kelapa

Persyaratan bahan pengencer yaitu mempunyai daya preservasi tinggi, mengandung unsur yang sifat fisik dan kimianya hampir sama dengan semen, tidak bersifat toksik bagi spermatozoa dan dapat mempertahankan daya fertilisasi spermatozoa (Susilawati, 2011). Air kelapa adalah salah satu bahan pengencer yang memenuhi kriteria tersebut, karena air kelapa mengandung karbohidrat yang dapat menjadi sumber energi bagi kehidupan spermatozoa (Kewilaa dkk., 2014). Kelapa hijau muda lebih baik untuk mempertahankan motilitas dari air kelapa merah yang muda dan tua sebagai pengencer terhadap kualitas semen kambing boer selama penyimpanan dingin dan motilitas spermatozoa selama penyimpanan dingin mampu mempertahankan spermatozoa sampai hari 2 pada pengenceran air kelapa merah muda $45 \pm 31,62\%$ dan air kelapa merah yang tua $51 \pm 27,26\%$ (Audia dkk, 2017; Mugiyati dkk, 2017).

Air kelapa dapat menjadi alternatif bahan pengencer yang mudah didapat dan murah. Air kelapa juga mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, dan fruktosa (Dwitarizki dkk, 2015). Kandungan air kelapa muda yaitu air 94,180 g/100g, protein 0,120 g/100g, lipid 0,073 g/100g, pH 4,7 dan mengandung beberapa ion yaitu Fe 0,02 mg/100g, P 4,66 mg/100g, Na 1,75 mg/100g, Zn 0,07 mg/100g, Ca 27,35 mg/100g, Cu 0,01 mg/100g, Mn 0,12 mg/100g serta didalam air kelapa mengandung asam amino

yaitu *alanin, lisin, arginin, metionin, aspartat fenilalanin, glutamat, prolin, glisin, serin, histidin, treonin, isoleusin, valin dan leusin* (Yong *et al.*2009). Pada pengencer air kelapa motilitas menurun pada hari terakhir karena kekurangan energi untuk metabolisme. Metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob menghasilkan asam laktat yang mengakibatkan racun bagi sperma. Pengenceran dengan menggunakan 100 ml air kelapa hijau muda motilitas bertahan selama pendinginan hari ke-3 $40,42 \pm 1,88\%$ (Yohana, 2014). Karbohidrat dalam pengencer berfungsi sebagai krioprotektan, mempertahankan tekanan osmotik pengencer serta keutuhan membran plasma dan menyediakan substrat energi untuk kebutuhan spermatozoa selama proses penyimpanan. Pengenceran air kelapa hijau muda pada semen kambing mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai 2 hari $48,33 \pm 20,17\%$ (Audia dkk., 2017).

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Loka Penelitian Sapi potong Grati Pasuruan, pada tanggal 15 April sampai 05 Mei 2018.

3.2. Materi Penelitian

Materi penelitian adalah semen dari dua ekor sapi Peranakan Ongole dengan kode 12.04.06 bobot badan 532,5 kg dan 2010/14 bobot badan 647 kg yang ada di Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan, berumur 6 dan 8 tahun, penampungan dilakukan setiap seminggu dua kali menggunakan metode vagina buatan. Penampungan semen dilakukan dengan memasukkan sapi betina pemancing ke kandang jepit, petugas penampung berada di sebelah kanan memegang vagina buatan dengan tangan kanan sudut kemiringan 45°. Pejantan didekatkan pada betina pemancing dan dilakukan *false mounting* sebanyak tiga kali bertujuan untuk meningkatkan libido pejantan.

3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini dengan eksperimen laboratorium dengan 4 perlakuan dan 10 ulangan. Pengamatan dilakukan berdasarkan lama penyimpanan. Perlakuan penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan Penelitian.

No	Perlakuan	Komposisi
1.	P1	CEP-3 + 20% Kuning Telur
2.	P2	Air Kelapa Muda Hijau + 20% Kuning Telur
3.	P3	P2 + 0,4% Putih Telur + 1% Fruktosa
4.	P4	P2 + 0,4% Putih Telur + 2% Fruktosa

Setiap perlakuan diamati setiap hari (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 hari) hingga mencapai motilitas individu spermatozoa 0%.

3.3.1. Pemisahan Albumin Putih Telur

- Alat : Gelas ukur, spuit dan cawan petri.
- Bahan : Telur ayam ras
- Prosedur Pembuatan :
 1. Dipisahkan antara kuning telur dan putih telur menggunakan cawan petri.
 2. Putih telur dipisahkan antara *thin albumin* dengan *thick albumin*.
 3. Diambil putih telur yang encer (*thin*) dan diambil menggunakan spuit serta dimasukkan ke dalam gelas ukur.
 4. Disimpan dalam *refrigerator*.

3.3.2. Pembuatan Pengencer CEP-3 dengan Penambahan Putih Telur

- Alat : Timbangan analitik, *magnetic stirrer*, mikropipet 1000 μ l, spoit ukuran 5 ml dan 10 ml, gelas ukuran 250 ml, 100 ml, 50 ml, *aluminium foil*, pH meter.
- Bahan : Komposisi bahan pengencer CEP-3 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Bahan Pengencer CEP-3.

Bahan	Jumlah
Fruktosa (mmol/l)	55,0
Sorbitol (g/l)	1,0
Asam Sitrat (mmol/l)	42,9
NaCl (mmol/l)	15,0
KCl (mmol/l)	7,0
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂ (mmol/l)	3,0
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆ (mmol/l)	4,0
NaHCO ₃ (mmol/l)	11,9
NaH ₂ PO ₄ (mmol/l)	8,0
KH ₂ PO ₄ (mmol/l)	20,0
TRIS (mmol/l)	133,7
Gentamicin (mmol/l)	0,05
Penisilin (IU)	1000
Streptomisin (g)	1
pH	6-7
Osm (mOsm)	320
Putih Telur (ml/l)	4

Sumber: Verberckmoes *et al* (2004); Susilawati dkk (2016); Ducha dkk (2013)

- Cara Pembuatan:

1. Bahan-bahan yang terdapat pada Tabel 2 dicampur dengan *diiozine water* (DI) sebanyak 1 liter dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* (Susilawati dkk, 2016).
2. pH diatur agar memiliki pH 6-7 dan osmolaritas 250-350 mOsm (Ducha dkk, 2013).

3. Ditambahkan putih telur yang encer sebanyak 0,4% menggunakan spoit, penambahan putih telur dilakukan sesaat akan digunakan (Susilawati dkk, 2016)
4. Ditambahkan 20% kuning telur dan dilakukan sentrifuge pada 1500 rpm sebanyak dua kali selama 30 menit.
5. Diambil supernatan.
6. Bahan pengencer siap digunakan.

3.3.3. Pembuatan Pengencer Air Kelapa Hijau Muda

- Alat : *Beaker glass*, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, mikropipet 1000 μ l, gelas ukuran 100 ml, 250 ml, *alum unium foil*, pH meter.
- Bahan : Air kelapa hijau muda, 20% kuning telur, 0,1g penisilin, 0,1g streptomycin dan 0,1g NaCHO₃. Komposisi bahan air kelapa disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Bahan Pengencer Air Kelapa Hijau Muda

Bahan	Jumlah	Fungsi
Air kelapa hijau muda	80 ml	Sumber Energi
Kuning Telur	20 ml	Sumber Energi
Streptomycin	0,1 g	Antibiotik
Penicillin	0,1 g	Antibiotik

Sumber: Yohana dkk (2014)

- Cara Pembuatan :

1. Diinaktivasi air kelapa hijau muda pada suhu 56°C selama 20 menit.

2. Disaring air kelapa sebanyak 3 kali, 1 kali penyaringan dengan kertas saring halus dan 2 kali penyaringan menggunakan kertas *whattman*.
3. Ditambahkan 0,1g Na_2HCO_3 , 0,1g *streptomycin* dan 0,1g *penicillin* pada air kelapa kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 5 menit
4. Ditambahkan kuning telur 20% pada bahan pengenceran air kelapa dan dihomogenkan selama 10-15 menit
5. Disentrifuge sebanyak dua kali selama 30 menit dengan 1500 rpm.
6. Diambil supernatan.
7. Simpan di *refrigerator*

3.4. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah kualitas semen cair dengan parameter sebagai berikut:

3.4.1 Pemeriksaan Makroskopis Semen

a. Volume

Volume semen yang sudah ditampung satu kali penampungan diukur dengan melihat langsung pada tabung penampung berskala (Susilawati, 2013).

b. pH

pH diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar dengan ose dan diletakkan pada kertas lakmus, atau pH meter kemudian dilihat pH semen, pH normal semen yaitu 6,2-7,8 (Susilawati, 2013).

c. Warna

Warna semen dapat dilihat langsung pada tabung penampung, semen normal berwarna krem (Waluyo, 2014).

d. Bau

Bau semen diamati menggunakan indra penciuman. Semen dengan keadaan normal umumnya mempunyai bau khas disertai bau dari ternak tersebut. Apabila terdapat bau busuk menunjukkan semen bercampur nanah (Suyadi,dkk, 2013).

e. Konsistensi

Konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa. Penilaiannya bias encer ($<1000.10^6$ spermatozoa/ml semen), sedang (1000.10^6 - 1500.10^6 spermatozoa/ml semen) dan pekat ($>1500.10^6$ spermatozoa/ml semen) (Susilawati, 2013).

3.4.2 Pemeriksaan Mikroskopis Semen

a. Motilitas Massa

Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan setelah semen diencerkan. Motilitas massa diamati dengan menggunakan mikroskop tanpa *cover glass* dengan perbesaran 400 kali atau 100 kali. Kriteria penilaian massa spermatozoa sangat baik (+++) terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif seperti gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak cepat dan berpindah pindah. Dinilai baik (++) terdapat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban. Dinilai kurang baik (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan gerakan-gerakan individual aktif progresif dan buruk (0), bila hanya sedikit ada gerakan – individual (Susilawati, 2013).

b. Motilitas Individu

Gerak motilitas individu spermatozoa dapat diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali pada suhu yang dijaga konstan 37°C dengan menggunakan

cover glass untuk menentukan spermatozoa yang bergerak progresif. Evaluasi semen dapat dilakukan pada semen segar atau semen yang telah diencerkan. Pada semen segar dengan konsentrasi yang tinggi sulit untuk diamati sehingga perlu diencerkan (Susilawati, 2013; Ax *et al*, 2008)

c. Konsentrasi

Konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1000-1800 juta spermatozoa tiap milliliter atau 800-2000 juta per milliliter. Perhitungan konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan pipet *haemocytometer*. Semen dihisap dengan pipet *eritrocyt* sampai angka 0,5 kemudian ditambah dengan larutan NaCl 3 % sampai skala 1,01. Larutan dalam pipet *eritrocyt* dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan membentuk angka delapan selama 2-3 menit. Kemudian larutan dibuang 1-2 tetes. Selanjutnya larutan dituang pada kamar hitung dan ditutup dengan *cover glass* sebanyak satu tetes. Spermatozoa dihitung pada 5 kotak yaitu pada sudut kanan dan kiri atas, sudut kanan dan kiri bawah, dan tengah. (Susilawati, 2013; Garnez and Hafez, 2008)

d. Viabilitas

Spermatozoa yang hidup dan yang mati dapat dibedakan reaksi warna spermatozoa. Bahan yang digunakan untuk pewarnaan adalah eosin negrosin. Pengamatan spermatozoa mati akan menghisap warna dan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna eosin negrosin dan spermatozoa yang berwarna sebagian dianggap mati (Susilawati, 2013).

e. Abnormalitas

Penilaian abnormalitas seperti pada penilaian viabilitas dengan membuat preparat ulas dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan

dalam satu bidang pandang minimal 200 spermatozoa. Penentuan abnormalitas spermatozoa didalam suatu diamati bersamaan dengan pemeriksaan motilitas%, konsentrasi (jt/ml) dan viabilitas%. Abnormalitas pada sapi yang baik yaitu <20% (Susilawati, 2013).

f. Analisis Total Spermatozoa Motil

Cara menghitung spermatozoa motil yaitu dengan cara mengalikan volume semen dengan konsentrasi kemudian dikali dengan persentase spermatozoa yang motil (Susilawati, 2013).

3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Metode penelitian yang digunakan adalah *experiment laboratory* dengan 4 perlakuan 10 ulangan. Lama penyimpanan pada hari yang terdekat dengan motilitas 40% dan total spermatozoa motil 40 jt/ml diuji menggunakan *Person's Chi Square* (Sholikhah dkk, 2016). Perhitungan uji *Person's Chi Square* dapat dilihat pada rumus dibawah ini :

$$X^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (F0 - Fh)^2}{Fh}$$

Keterangan:

X^2 = Chi Kuadrat

F0 = Frekuensi yang di observasi

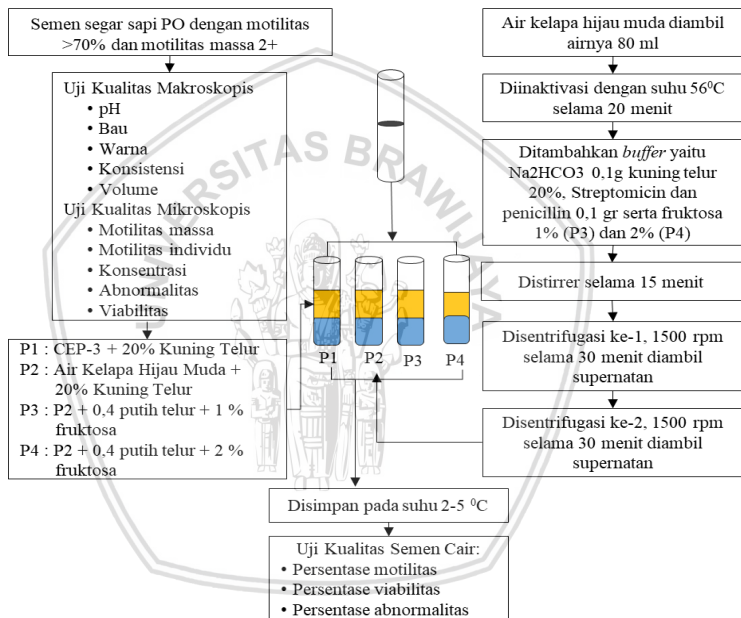
Fh = Frekuensi yang diharapkan

3.6. Batasan Istilah

a. *Cool bottom* : *Refrigerator* bagian bawah yang digunakan untuk penurunan suhu pada proses penambahan volume pengencer.

- b. *Cool top* : *Refrigerator* bagian atas dengan suhu 5 °C.
- c. *Thin* putih telur : Bagian dari putih telur yang bersifat encer untuk menggantikan fungsi BSA sebagai pengencer CEP-3.

3.7. Kerangka Operasional



Gambar 2. Kerangka Operasional Penelitian



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pemeriksaan Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole.

Semen perlu dilakukan evaluasi untuk mengetahui kualitas semen secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis semen meliputi volume (ml), warna, bau konsistensi dan pH. Pemeriksaan mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu (%), viabilitas(%), abnormalitas(%), dan konsentrasi (jt/ml). Semen yang digunakan berasal dari 2 ekor sapi PO yang berumur diantara 6 dan 8 tahun. Motilitas semen yang baik digunakan yaitu >70%. Ratan uji kualitas semen disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole.

Parameter	Rata- rata Sd
Uji Makroskopis	
Warna	Krem
Bau	Khas
Volume (ml)	4,17±1,17
pH	6,47±0,10
Konsistensi	Sedang
Uji Mikroskopis	
Motilitas Massa	++
Motilitas individu (%)	71,67±2,58
Viabilitas (%)	92,13±2,08
Abnormalitas (%)	2,69±0,65
Konsentrasi (jt/ml)	1210,00±160,10
Total spermatozoa motil (jt/ml)	866,00±107,23

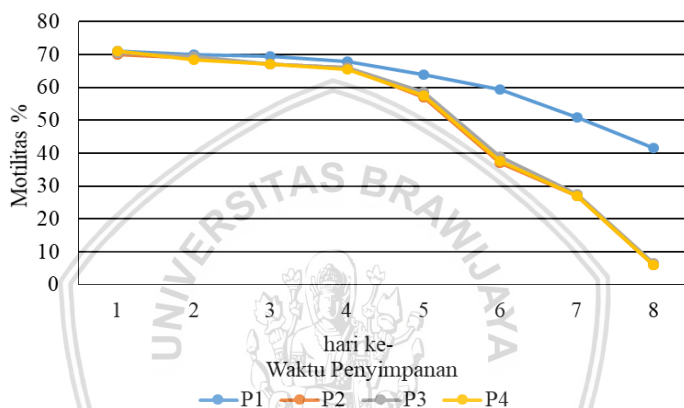
Rataan volume semen yang didapatkan selama penelitian yaitu sebesar 4,17±1,17 ml. Menurut Garner dan Hafez (2008) menyatakan bahwa volume semen sapi per ejakulasi sebesar 5-8 ml. Semen sapi PO yang digunakan saat

penelitian mempunyai warna krem. Warna semen berwarna krem sesuai dengan pendapat Susilawati (2011) menyatakan bahwa warna krem pada semen disebabkan oleh adanya ribloflavin dari sekresi kelenjar vesikularis. Sedangkan semen yang abnormal atau tidak layak digunakan berwarna putih keruh berair, kuning kemerahan dan terdapat darah. Bau pada saat penelitian mempunyai bau khas. Rataan konsentrasi semen segar sapi Peranakan Ongole yang didapatkan selama penelitian adalah $1210,00 \pm 160,10$ jt/ml. Hal ini sesuai dalam kategori baik menurut Susilawati (2013) konsistensi berkolerasi dengan konsentrasi spermatozoa yaitu apabila konsistensi sedang (1000.10^6 - 1500.10^6 spermatozoa/ml) dan pekat ($>1500.10^6$ spermatozoa/ml semen). Rataan pH semen yang didapatkan yaitu $6,47 \pm 0,10$, pengukuran pH menggunakan kertas pH normal pada semen sapi yaitu 6,2-6,8 (Susilawati, 2013). pH sangat mempengaruhi daya tahan spermatozoa karena sangat berkaitan dengan metabolisme spermatozoa (Sundari, dkk 2013). Hasil evaluasi mikroskopis didapatkan motilitas individu $71,67 \pm 2,58\%$, motilitas massa ++, dan konsentrasi $1210,00 \pm 160,10$ jt/ml. Hasil pemeriksaan mikroskopis menunjukkan bahwa semen layak untuk diproses sesuai dengan pendapat Susilawati (2013) menyatakan bahwa persentasi spermatozoa motil dalam keadaan normal tidak kurang dari 70-90%, abnormalitas kurang dari 20% dan konsentrasi sedang spermatozoa 1000×10^6 - 1500×10^6 jt/ml.

4.2. Persentase Motilitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Persentase motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan salah satu faktor keberhasilan fertilitas untuk membuahi sel telur. Persentase motilitas individu

spermatozoa diamati dengan menghitung persentase spermatozoa yang bergerak progresif. Pengamatan motilitas individu progresif menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Penurunan persentase motilitas spermatozoa selama penyimpanan dapat dilihat ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Persentase Motilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan

Rataan motilitas individu tertinggi adalah P1, P4 , P3 dan P2. Rataan persentase motilitas ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa Pada Berbagai Pengencer Yang Berbeda.

Waktu Pengamatan	Motilitas (%)			
	P1 (%)	P2(%)	P3 (%)	P4 (%)
Hari -1	71,00±2,11	70,00±0,00	70,50±1,58	71,00±2,11
Hari -2	70,00±0,00	69,00±2,11	69,50±1,58	68,50±2,42
Hari -3	69,50±1,58	67,00±3,50	67,00±3,50	67,00±4,22
Hari -4	68,00±2,58	66,00±3,94	66,00±3,94	65,50±4,38
Hari -5	64,00±5,16	57,00±9,49	58,50±7,47	57,50±7,17
Hari -6	59,50±6,43	37,00±5,37*	39,00±3,94*	37,50±5,40*
Hari -7	51,00±7,38	27,00±9,49	27,50±7,17	27,00±8,23
Hari -8	41,50±7,47*	6,00±6,58	6,50±3,37	6,00±2,11

Rataan persentase motilitas spermatozoa selama penyimpanan dingin menunjukkan bahwa nilai motilitas spermatozoa yang >40% yaitu perlakuan P1 dapat bertahan sampai hari ke-8 dengan motilitas sebesar 41,50±7,47% dan perlakuan air kelapa hijau muda dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai penyimpanan hari ke-5 yaitu perlakuan P2 dengan rataannya 57,00±9,49%, P3 dengan nilai rataannya motilitas 58,50±7,47% dan P4 dengan nilai rataannya 57,50±7,17%. Dari keempat perlakuan menunjukkan hasil yang baik yaitu memiliki nilai motilitas spermatozoa diatas 40% tetapi motilitas spermatozoa pada pengenceran air kelapa hijau muda setelah penyimpanan hari ke-6 mengalami penurunan dibawah 40%. Penurunan motilitas, sesuai dengan pernyataan Ducha dkk (2012) bahwa penggunaan pengencer CEP-2+10% kuning telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa dan meminimalisir kerusakan membran spermatozoa. Semen yang layak digunakan dalam program IB harus memiliki persentase motilitas spermatozoa minimal 40%. Menurut Kewilaa (2013) menyatakan bahwa spermatozoa membutuhkan gula sederhana seperti fruktosa

sebagai sumber energi yang dimanfaatkan spermatozoa untuk bergerak.

Hasil perhitungan dengan uji *Person's Chi Square* dengan nilai harapan motilitas untuk diaplikasikan IB yaitu motiitas sebesar 40% (BSN, 2017). Nilai motilitas diambil pada hari terdekat dengan nilai motilitas 40%. Hasil perhitungan dengan *Person's Chi Square* yaitu perlakuan CEP-3 (P1) pada penyimpanan hari ke-8 bahan pengencer tersebut tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P>0,05$) dengan motilitas sebesar $41,50\pm7,47\%$. Perlakuan air kelapa hijau muda diambil dihari terdekat dengan 40% yaitu penyimpanan hari-6 bahwa perlakuan P2, P3 dan P4 tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P>0,05$) artinya bahwa motilitas yang didapatkan sama dengan nilai harapan untuk diaplikasikan IB mempunyai motilitas sebesar 40% dan dapat digunakan untuk IB yaitu sampai 6 hari lama simpan dingin. Persentase motilitas pada perlakuan P2 motilitas sebesar $37,00\pm5,37\%$, perlakuan P3 didapatkan motilitas sebesar $39,00\pm3,94\%$ dan perlakuan P4 didapatkan motilitas sebesar $37,50\pm5,40\%$. Nilai motilitas yang didapatkan mendekati dengan penelitian sapi limousin selama penyimpanan dalam pengencer CEP-2 dengan suplementasi kuning telur bertahan sampai hari ke-8 dengan motilitas sebesar $44,25\pm 3,92\%$ (Ducha dkk, 2013).

Pengencer air kelapa mampu mempertahankan motilitas hingga hari ke-6 meskipun hari ke-7, 8 dan 9 mengalami penurunan. Air kelapa tidak mampu melindungi spermatozoa dari suhu dingin, maka perlu ditambahkan kuning telur untuk melindungi spermatozoa dari cekaman dingin. Kuning telur digunakan sebagai bahan krioprotektan yang berfungsi sebagai sumber nutrisi, sumber energi dan pelindung eskraseluler

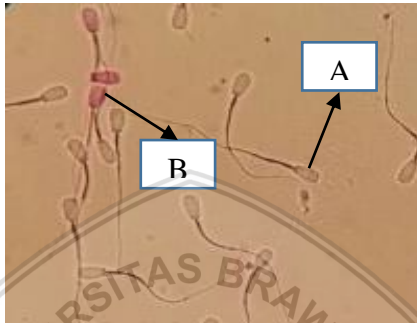
spermatozoa dari *cold shock* karena mengandung lipoprotein dan lesitin (Dwitarizki dkk., 2015).

Bahan pengenceran menggunakan putih telur sebagai pengganti BSA mampu mempertahankan semen cair pada P1 sampai hari ke-8 dan pada pengencer air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P3 dan P4 dengan penambahan putih telur sebanyak 0,4%, fruktosa (1% dan 2%) didapatkan motilitas lebih tinggi dibandingkan perlakuan P2 yaitu dapat disimpan selama 6 hari penyimpanan. Menurut Sianturi dkk (2004) menyatakan bahwa dengan penambahan putih telur sebagai albumin alternatif dalam menggantikan BSA dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock*. Penambahan fruktosa berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yaitu melindungi membran plasma sel sperma dari kerusakan secara mekanik yang terjadi saat proses kriopreservasi (Rizal, 2007).

1.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Viabilitas atau daya hidup spermatozoa diketahui dengan pewarnaan yaitu menggunakan eosin negrosin. Pewarnaan dengan eosin negrosin yaitu spermatozoa yang hidup berwarna warna terang atau tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa mati menyerap warna merah atau pink dan spermatozoa berwarna sebagian dianggap mati akibat rusaknya membran spermatozoa (Susilawati, 2013). Membuat preparat ulasan viabilitas yaitu dengan meneteskan satu ose semen pengencer diatas objek gelas dan ditambahkan eosin negrosin satu ose, kemudian dilakukan ulas dengan *object glass* lain pada ujungnya dengan membentuk sudut 45° dan ditarik kearah yang lain sampai merata serata sampel ditempatkan dislide hangat pada 37°C untuk mempercepat pengeringan, hasil ulasan diamati menggunakan mikroskop

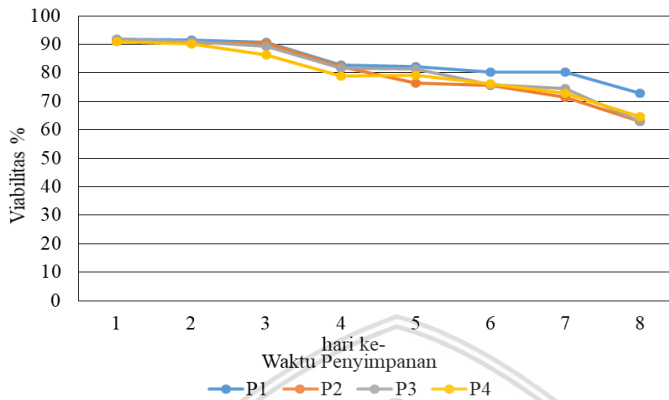
dengan perbesaran 400 kali (Susilawati, 2013; Ducha *et al*, 2017). Perbedaan spermatozoa hidup dan mati dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Perbedaan Spermatozoa Hidup Dan Mati Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

(A) Spermatozoa Hidup Berwarna Transparan dan (B) Spermatozoa Mati Berwarna Pink

Persentase nilai viabilitas spermatozoa selama penyimpanan dingin pada perlakuan P1 sebagai kontrol, P2, P3 dan P4 pada pengenceran air kelapa hijau muda menunjukkan adanya penurunan nilai viabilitas spermatozoa. Pola penurunan persentase viabilitas selama penyimpanan dingin ditampilkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Persentase viabilitas spermatozoa terus mengalami penurunan selama penyimpanan dingin 2-5°C, hal ini disebabkan karena kekurangan energi didalam bahan pengencer untuk kelangsungan hidup spermatozoa (Indriani dkk, 2013). Viabilitas terus mengalami penurunan yang diakibatkan oleh suhu dingin selama penyimpanan seperti kekurangan energi didalam pengencer dan menurunnya pH karena meningkatnya asam laktat hasil metabolisme spermatozoa serta kerusakan membran plasma spermatozoa selama simpan dingin. Rataan persentase viabilitas selama penyimpanan hari ke-8 bahwa P1 nilai viabilitas lebih tinggi dibandingkan P3, P4 dan P2. Rataan persentase viabilitas spermatozoa ditampilkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rataan Persentase Viabilitas Sapi Peranakan Ongole Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.

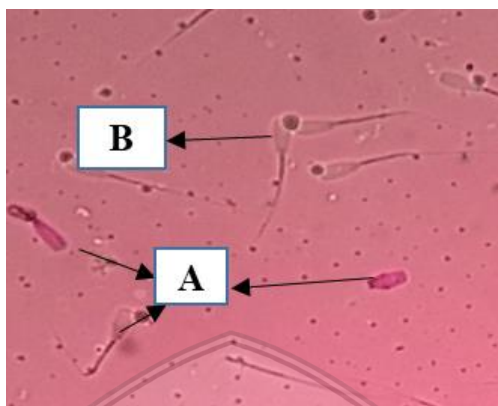
Waktu Pengamatan	Viabilitas %			
	P1 (%)	P2(%)	P3 (%)	P4 (%)
Hari -1	91,87±4,98	91,13±4,74	91,69±4,18	91,04±4,70
Hari -2	91,44±7,24	90,38±4,76	91,01±5,53	90,25±7,16
Hari -3	90,71±6,71	90,28±5,85	89,33±4,99	86,40±5,08
Hari- 4	82,80±4,76	82,13±6,91	81,66±6,33	78,99±7,45
Hari -5	82,27±5,22	76,41±6,89	81,39±5,03	79,06±5,05
Hari- 6	80,31±4,39	75,44±5,88	75,82±10,96	76,15±6,81
Hari -7	80,19±6,03	71,41±7,53	74,46±7,78	72,94±14,08
Hari -8	72,74±4,51	63,05±8,94	62,89±6,94	64,45±6,44

Proses metabolisme spermatozoa akan menyebabkan kerusakan dan kematian pada spermatozoa. Persentase viabilitas yang diatas 70% selama penyimpanan dingin hari ke-8 didapatkan nilai tertinggi yaitu pada perlakuan P1 dengan nilai viabilitas sebesar 72,74±4,51% dan nilai persentase viabilitas pada pengenceran air kelapa hujau muda tertinggi yaitu perlakuan P3 mempunyai nilai viabilitas sebesar 63,05±8,94%, kemudian diikuti oleh perlakuan P4 dan P2 didapatkan nilai viabilitas berturut-turut sebesar 64,45±6,44% dan 63,05±8,94%. Kuning telur berfungsi sebagai makromolekul yang mengandung substansi protektif berupa lesitin dan lipoprotein yang berfungsi mempertahankan dan melindungi membran spermatozoa (Susilawati, 2013). Suhu selama proses pengenceran semen dingin harus dijaga dan penurunan suhu pada saat pengenceran dilakukan secara bertahap agar spermatozoa tidak mengalami *cold shock*, sehingga dapat mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan dingin. Bahan pengenceran yang digunakan selama penyimpanan harus mempunyai beberapa persyaratan yaitu semen cair harus berfungsi untuk melindungi

spermatozoa selama proses pendinginan dan pembekuan maupun pada saat proses *thawing* (Ridwan, 2009). Viabilitas spermatozoa mengalami penurunan pada saat suhu dingin disebabkan oleh fosfolipid membran sel spermatozoa yang mengalami penurunan fungsi membran. Putih telur sudah cukup mampu menggantikan BSA untuk mempertahankan viabilitas spermatozoa karena memiliki rata-ran persentase spermatozoa ≥ 60 % sampai hari ke-8 selama penyimpanan dingin pada perlakuan P2, P3, dan P4.

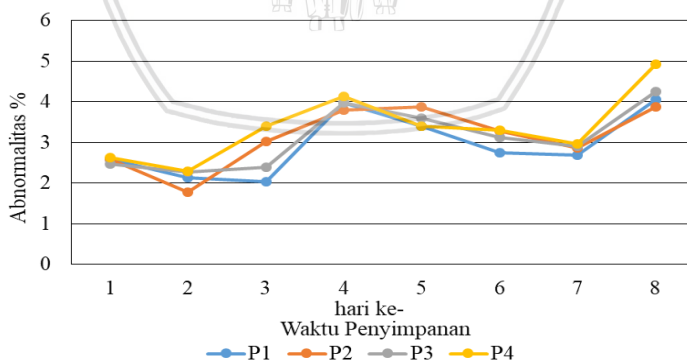
4.4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Abnormalitas spermatozoa dibagi menjadi dua macam yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer yaitu terjadi saat proses spermatogenesis dan abnormalitas sekunder terjadi saat prosesing spermaozoa. Terdapat lima kategori spermatozoa abnormal, yaitu tidak ada ekor, bentuk ekor abnormal, abnormal kepala, bentuk ekor abnormal dengan adanya *sitoplasmic droplet* pada bagian *proximal* dan bentuk abnormal ekor pada bagian *distal droplet* (Susilawati, 2013; Ax *et al*, 2008). Spermatozoa normal dan abnormal dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Perbedaan Spermatozoa Abnormal (A) dan Spermatozoa Normal (B) Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Persentase abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan dingin pada perlakuan P1 sebagai kontrol, P2, P3 dan P4 pada pengenceran air kelapa hijau muda menunjukkan adanya perubahan nilai abnormalitas. Pola persentase abnormalitas spermatozoa ditampilkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Pola Peningkatan Abnormalitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Persentase abnormalitas selama pengamatan menunjukkan nilai abnormalitas yang fluktuatif namun masih dibawah <20%. Menurut Susilawati (2013) menyatakan bahwa abnormalitas yang baik untuk IB mempunyai nilai abnormalitas <20%. Rataan Persentase abnormalitas spermatozoa ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rataan Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Peranakan Ongole Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.

Waktu Pengamatan	Abnormalitas %			
	P1(%)	P2(%)	P3(%)	P4(%)
Hari - 1	2,13±1,86	1,78±1,22	2,28±1,56	2,30±1,31
Hari - 2	2,03±1,19	3,02±1,77	2,38±1,09	3,39±0,68
Hari - 3	3,97±2,19	3,79±1,09	3,98±1,53	4,13±1,54
Hari - 4	3,39±1,43	3,88±1,59	3,60±1,29	3,41±1,86
Hari - 5	2,74±1,94	3,29±1,65	3,13±1,62	3,31±1,70
Hari - 6	2,68±0,54	2,87±1,40	2,90±1,89	2,96±1,44
Hari - 7	4,05±2,02	3,87±1,22	4,25±1,39	4,91±0,81
Hari - 8	4,24±2,03	5,19±2,08	5,30±1,98	4,89±0,63

Rataan persentase abnormalitas semakin lama penyimpanan, maka nilai abnormalitas akan meningkat. Nilai abnormalitas pada semua perlakuan selama penyimpanan menunjukkan nilai abnormalitas masih dibawah 20%. Abnormalitas spermatozoa terdiri atas dua macam yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer yaitu kelainan pada kepala spermatozoa (kepala besar, kepala kecil, kepala ganda, dan bentuk abnormal) sedangkan kelainan pada ekor adalah ekor spermatozoa dua atau bentuknya abnormal. Abnormalitas sekunder disebabkan pada saat pengenceran, *cold shock* sedangkan abnormalitas primer seperti kepala kecil, kepala besar, kepala ganda hal ini sesuai dengan

pendapat (Garner dan Hafez, 2008). Penilaian abnormalitas dapat diketahui seperti ekor terputus dan menempel (Ihsan, 2011). Abnormalitas yang didapatkan selama penelitian yaitu abnormalitas sekunder, berupa ekor dan kepala terpisah, ekor melingkar. Susilawati dkk., (2016) menyatakan bahwa pencampuran dengan pengencer dan pembuatan preparat ulas yang kasar dapat menyebabkan kerusakan pada kepala spermatozoa.

4.5. Total Spermatozoa Motil

Total spermatozoa motil perlu diketahui untuk melihat spermatozoa yang motil progresif dalam suatu ejakulat dalam menentukan peluang terjadinya fertilisasi. Spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan konsentrasi dengan motilitas spermatozoa (Firdausi dkk, 2014). Rataan hasil total spermatozoa motil pada pengenceran air kelapa sampai penyimpanan hari ke-6 sedangkan pengenceran CEP-3 sampai penyimpanan hari ke-8 pada Tabel 8.

Tabel 8. Rataan Total Spermatozoa Motil Sapi Peranakan Ongole Pada Pendinginan Sesuai Perlakuan.

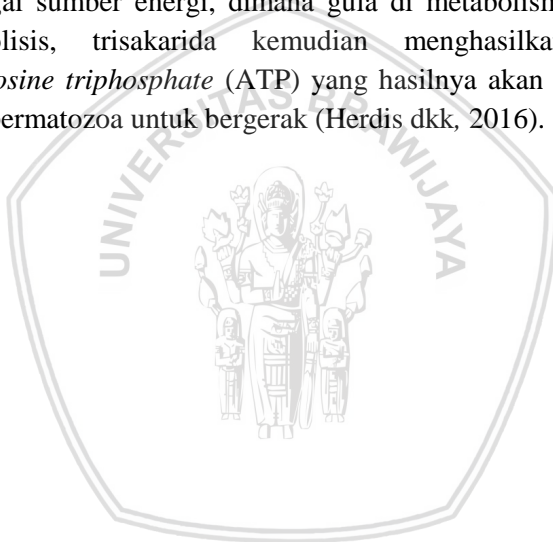
Perlakuan	Waktu	Total spermatozoa motil (jt/ml)
P1	Hari- 8	46,25±4,71
P2	Hari- 6	46,40±10,12
P3	Hari- 6	43,25±4,22
P4	Hari- 6	45,70±8,50
Nilai Harapan		40,00

Rataan total spermatozoa motil semen cair yang disimpan pada hari ke 8 menunjukkan P1 memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan pada pengenceran air kelapa hijau muda. Hasil perhitungan total spermatozoa motil pada semua perlakuan menunjukkan hasil diatas 40 Jt/ml spermatozoa motil, berarti

semua perlakuan masih bisa digunakan untuk IB. Total spermatozoa motil yang baik diaplikasikan untuk IB mempunyai nilai harapan yaitu 40 jt/ml spermatozoa motil (BSN, 2017). Hasil analisis menggunakan *Pearson's Chi square* dengan nilai harapan 40 jt/ml spermatozoa motil pada perlakuan P1 selama penyimpanan dingin sampai hari ke-8 menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) yaitu dengan nilai total spermatozoa motil sebesar $46,25\pm4,71$ jt/ml sedangkan bahan pengencer menggunakan air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P2, P3 dan P4 menunjukan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan nilai total spermatozoa motil berturut-turut sebesar $46,40\pm10,12$ jt/ml $43,25\pm4,22$ jt/ml dan $45,70\pm8,50$ jt/ml artinya bahwa nilai total spermatozoa motil yang didapatkan memiliki nilai mendekati dengan nilai harapan yaitu 40 jt/ml sehingga pengenceran air kelapa hijau muda dapat diaplikasikan untuk IB sampai 6 hari lama simpan dingin $2-5^{\circ}\text{C}$.

Pengenceran CEP-3 merupakan bahan pengencer yang menggantikan BSA dengan putih telur sebanyak 0,4% pada bahan pengencer dan mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai penyimpanan hari ke-8. Penambahan putih telur dalam pengencer CEP-3 sangat baik untuk menggantikan BSA dengan bahan yang mudah didapatkan dan harga murah. Penambahan putih telur dalam pengencer, ini lebih baik dari penelitiannya Susilawati dkk (2016) yaitu dengan penambahan putih telur sebanyak 0,4% dan 10% kuning telur pada CEP-2 mampu mempertahankan motilitas sampai penyimpanan jam ke-48 dengan motilitas sebesar $40,50\pm3,69\%$. Bahan pengencer yang digunakan dengan penambahan kuning telur diharapkan mampu melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (*cold shock*). Menurut

Ducha dkk (2013) menyatakan bahwa dengan pada pengenceran CEP-2 dengan penambahan 20% kuning telur pada sapi Limousin mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai penyimpanan hari ke-8 dengan rata-rata motilitas sebesar $87,46 \pm 5,40\%$. Bahan lain yang diperlukan untuk keberlangsungan hidup spermatozoa selain putih telur dan kuning yaitu gula sederhana yaitu fruktosa, sukrosa dan glukosa. Gula sederhana yang digunakan yaitu fruktosa sebagai sumber energi, dimana gula di metabolisme melalui glukolisis, trisakarida kemudian menghasilkan energi *adenosine triphosphate* (ATP) yang hasilnya akan digunakan sel spermatozoa untuk bergerak (Herdis dkk, 2016).





BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Formulasi pengenceran air kelapa hijau muda dapat mempertahankan kualitas semen cair selama penyimpanan dingin hari ke-6 dan bahan pengencer terbaik pada air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P2 mempunyai nilai motilitas sebesar $37,00 \pm 5,37\%$ dan diikuti oleh pengencer P4 dan P3 dengan nilai motilitas berturut-turut yaitu sebesar $37,50 \pm 5,40\%$ dan $39,00 \pm 3,94\%$.

5.2. Saran

Bahan pengencer semen cair yang baik untuk diaplikasikan IB menggunakan pengencer CEP-3+20% KT yaitu sampai 8 hari selama simpan dingin dan bahan pengencer terbaik pada air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P2 dan dapat diaplikasikan untuk IB sampai 6 hari selama penyimpanan dingin $2-5^{\circ}\text{C}$.



DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, M. 2014. Poptensi dan Keragaman Sumberdaya Genetic Sapi Peranakan Ongole (PO). Wartazoa. 14 (12): 98-106.
- Atabany, A., B. P. Purwanto., T. Toharmat., dan A. Anggraeni. 2011. Hubungan Masa Kosong Dengan Produktivitas Pada Sapi Perah Friesien Holstein Di Baturaden, Indonesia. Media Peternakan Jawa Barat. 34 (2): 77-82.
- Audia, R. P., M. A., Salim, N. Isnaini, dan T. Susilawati. 2017. Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau Sebagai Bahan Pengencer Yang Ditambah 10% Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. J. Ternak Tropika 18 (1): 58-68.
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, Hafez, and M. Bellin. 2008. Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animal. 7th edition. Edited by Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA: 365-370.
- Azzahra, F. Y., E. T. Setiatin, dan D. Samsudewa. 2016. Evaluasi Motilitas dan Persentase Hidup Semen Segar Sapi PO Kebumen Pejantan Muda. Jurnal Sain Peternakan Indonesia. 11 (2): 99-107.
- BSN. 2017. Semen Beku –Bagian 1: Sapi. Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-4869-1: 2017. BSN. Jakarta.

- Costa, N.D., T. Susilawati, N. Isnaini and M. N. Ihsan. 2016. Effect of Different Dilution Materials Usage on Indonesian Peranakan Ongole Bull Sperm Quality During Cooling Process. *IAJPS*. 3(4): 379-385
- Djauhari, T. 2012. Pengaruh Penambahan Fosfolipid Terhadap Kualitas spermatozoa Manusia. *Jurnal Kedokteran Universitas Airlangga*: 22-30.
- Ducha, N. 2012. Suplementasi Kuning Telur Dalam Pengencer CEP-2 Terhadap Kualitas dan Integritas Membran Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Suhu 4-5°C. *Disertasi*. Malang : Universitas Brawijaya.
- _____, T Susilawati, Aulanni'am dan S. Wahyuningsih. 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan Pada Refrigerator dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran hewan*. 7 (1): 5-8.
- _____, D. Hariani, dan W. Budijastuti. 2017. The Relationship Of Physical and Chemical Conditions of CEP Diluent With Egg Yolk Addition to Bull Spermatozoa Quality Before and after Storage at Temperaturof 4-5°C. The 2nd International Joint Conference on Science and Technology. 1-6 doi :10.1088/1742-6596/953/1/01220
- Effendi, F.I., S. Wahjuningsih, dan M. N. Ihsan. 2016. Pengaruh Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur yang Disuplementasi Sari Kulit anggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Kualitas Semen Sapi Limousin

Selama Penyimpanan Suhu Dingin 5 °C. Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan. 25 (3): 69-79.

Firdausi, P.A., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan menggunakan Pengencer CEP-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Santan. Jurnal Ternak Tropika. 15 (1): 21-30.

Garner, D.L., and E.S.E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Plasma Semen. In Reproduction in Farm Animal. Hafez E.S.E. and B. Hafez (eds.). 7th ed. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland, USA: 82-95.

Herdis, I.W.A Darmawan, dan M. Rizal. 2016. Penambahan Beberapa Jenis Gula Dapat Meningkatkan Kualitas Spermatozoa Beku Asal Epididimis Ternak Domba. Jurnal Kedokteran Hewan. 10(2): 200-204

Ihsan, M.N., dan S. Wahjuningsih. 2011. Penampilan Reproduksi Sapi Potong di Kabupaten Bojonegoro. Jurnal Ternak Tropika. 12 (2): 76-80.

Ihsan, M.N. 2011. Penggunaan Telur Itik sebagai Pengencer Semen Kambing. J. Ternak Tropika. 12 (1): 10-14.

Indriani., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. Jurnal Veteriner. 14(3): 379-386.

Kewilaa, A.I., Y.S. Ondho, dan S.T. Enny. 2013. Pengaruh Berbagai Jenis Pengencer Air Kelapa Muda

dengan Penambahan Kuning Telur yang Berbeda terhadap Kualitas Spermatozoa Semen Cair Domba Ekor Tipis (DET). *Agrinimal*. 3 (1): 1-9.

_____, A.I., Y.S. Ondho, dan S.T. Enny. 2014. Efisiensi Penambahan Kuning Telur dalam Pembuatan Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa pada Semen Cair Domba Ekor Tipis (DET). *AGRILAN*. 2 (2): 1-12

Kusrianty, N., Mirajuddin, dan Awalludin. 2016. Efektifitas Inseminasi Buatan pada Sapi Potong menggunakan Semen Cair. *Jurnal Mitra Sains*. 4 (1): 50-57.

Muchtadi, T. R., Sugiyono, dan F. Ayustanigwarno. 2010. Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan. Alfabeta. Bogor. ISBN : 978-602-8800-13-6.

Mugiyati, M. A., Salim, N. Isnaini, dan T. Susilawati. 2017. Pengaruh Air Kelapa Merah Yang Muda Dan Tua Sebagai Pengencer Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Penyimpanan Dingin. *J. Ternak Tropika*. 18(1): 20-26

Ridwan. 2009. Pengaruh Pengencer Semen terhadap Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Kambing Lokal pada Penyimpanan Suhu 5°C. *J. Agroland*. 16 (2): 187-192.

Rizal, M., Herdis, Yulnawati dan H. Maheshwari. 2007. Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau

belang yang dikriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. Jurnal Veteriner 8 (4): 188-193.

Sades, A.M., N. Isnaini, dan S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh Suplementasi Filtrat Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus L.*) terhadap Kualitas Semen Sapi Simmental dalam Pengencer Skim Milk pada Suhu Dingin. Jurnal Ternak Tropika. 17(1):1-10.

Selk, G. 2007. Artificial Insemination Forr Beef Cattle. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State university

Sholikhah, N., N. Isnaini., A.P.A. Yekti, dan T. Susilawati. 2016. Pengaruh Penggantian *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan Putih Telur pada Pengencer CEP-2 Terhadap Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole pada Suhu Penyimpanan 3-5°C. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. 26 (1):7-15.

Sianturi, R.G., P. Situmorang., E. Triwulanningsih., T. Sugiarti, dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Pengaruh Isobutil Metilxantina (IMX) dan Waktu Pemisahan terhadap Kualitas dan Efektifitas Pemisahan Spermatozoa dengan Metode Kolom Albumin Telur. JITV. 9(4): 246-251.

Suharyati, S., dan M. Hartono. 2011. Preservasi Dan Kriopreservasi Semen Sapi Limousin dalam Berbagai Bahan Pengencer. Jurnal Kedokteran Hewan. 5 (2): 53-58.

Sundari, T. W., T.R. Tagama dan Maidaswar. 2013. Korelasi Kadar pH Semen Segar Dengan Kualitas Semen Sapi Limousin Di Balai Inseminasi Buatan. *Jurnal Ilmu Peternakan*. 1(3): 1043-1049.

Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-203-458-2.

_____. 2011^a. *Spermatology*. Malang: UB Press. ISBN: 978-602-8960-04-5.

_____. 2011^b. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*. 12 (2): 15-24.

_____. F. E. Wahyudi., I. Anggraeni., N. Isnaini, dan M. N. Ihsan. 2016. Penggantian Bovine Serum Albumin pada Pengencer CEP-2 dengan Serum Darah Sapiid an Putih Telur terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Limousin selama Pendinginan. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10 (2): 98-102.

_____. N. Isnaini, A.P.A.Yekti, I. Nurjanah, Errico dan N. D. Costa. 2016. Keberhasilan Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku dan Semen Cair pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 26 (3): 14-19

_____. 2017. *Sapi Lokal Indonesia (Jawa Timur dan Bali)*. Malang: UB Press. ISBN : 978-602-432-233-5.

- Suyadi, A. Rachmawati dan N. Iswanto. 2013. Pengaruh α -tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 22(3):1-8.
- Verberckmoes, S., A.V. Some., J. Dewulf., I.D. Pauw, and A. Kruif. 2004. Storage of Fresh Bovine Semen in a Diluent Based on the Ionic Composition of Cauda Epididymal Plasma. *Journal of Reprod Dom Anim*. 39 (6):1-7.
- Wahana, A.G., M. K. Budiasa, dan W. Bebas. 2014. Penambahan Bovine Serum Albumin Mempertahankan Motilitas Progresif Spermatozoa Kalkun pada Penyimpanan Suhu 4° C. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3 (4):317-322.
- Wahyudi, L., T. Susilawati, dan N. Isnaini. 2014. Tampilan Reproduksi Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku Hasil Sexing pada Sapi Persilangan Ongole di Peternakan Rakyat. *Jurnal Ternak Tropika*. 15 (1): 80-88.
- Wahjuningsih, S. 2013. Kriopservasi Oosit Sapi. Malang: UB Press. ISBN : 978-602-203-115-4.
- Waluyo, T. S. 2014. Reproduksi Aplikatif pada Sapi. Bandung: PT SEWU (Srikandi Empat Widya Utama). ISBN : 978-602-1181-24-9.

Yohana, T., N .Ducha, dan Raharjo. 2014. Pengaruh Pengencer Sintetis dan Alami terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman Selama Penyimpanan Dalam Suhu Dingin LenteraBio. 3(3): 261-265.

